

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1932-1933. — N° 8

MÉTHODE
ET
MILIEU DE LOEWENSTEIN
POUR
LA RECHERCHE DU BACILLE DE KOCH

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 18 Novembre 1932

PAR

René-François-Xavier OLLIVIER

ÉLÈVE DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE.

Né à PÉDERNEC (Côtes-du-Nord), le 1^{er} décembre 1907.

Examineurs de la Thèse	{	MM. MAURIAC, professeur.....	Président
		LEURET, professeur.....	Juges.
		AUBERTIN, agrégé.....	
		PIÉCHAUD, agrégé.....	

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ
Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR
3-6, Place Saint-Christoly

1932

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1932-1933. — N° 8

MÉTHODE
ET
MILIEU DE LOEWENSTEIN
POUR
LA RECHERCHE DU BACILLE DE KOCH

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 18 Novembre 1932

PAR

René-François-Xavier OLLIVIER

ELÈVE DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE.

Né à PÉDERNEC (Côtes-du-Nord), le 1^{er} décembre 1907.

Examineurs de la Thèse	{	MM. MAURIAC, professeur.....	Président
		LEURET, professeur.....	Juges.
		AUBERTIN, agrégé.....	
		PIÉCHAUD, agrégé.....	

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DE L'UNIVERSITÉ
Y. CADORET, DELMAS, SUCCESSEUR
3-6, Place Saint-Christoly

1932

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

M. SIGALAS..... Doyen.



PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. POUSSON, MOURE, W. DUBREUILH, RIVIÈRE, BARTHE, DENIGÈS, AUCHÉ, SELLIER.

PROFESSEURS

	MM.		MM.
Clinique médicale.....	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie.....	MANDOUL.
id.....	CASSAET.	Médecine expérimentale.....	DUPÉRIÉ.
Clinique chirurgicale.....	CHAVANNAZ.	Clinique ophtalmologique.....	TEULIÈRES.
id.....	BÉGOUIN.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie.....	ROCHER.
Pathologie et thérapeutiques générales...	CARLES.	Clinique gynécologique.....	GUYOT.
Clinique d'accouchements.....	ANDÉRODIAS.	Clinique méd. des maladies des enfants.....	CRUCHET.
Anatomie pathol. et microscopie clinique.	SABRAZÈS.	Chimie biologique et médicale.....	DELAUNAY.
Anatomie.....	VILLEMIN.	Physique médicale et pharmaceutique....	SIGALAS.
Anatomie générale et histologie.....	G. DUBREUIL.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques.	BONNIN.
Physiologie.....	PACHON.	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	PETGES.
Hygiène.....	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires.	DUVERGEY.
Médecine légale et déontologie.....	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales.	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie.....	PORTMANN.
Chimie.....	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée.....	LABAT.
Botanique et matière médicale.....	BEILLE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie..	GREYX.
Pharmacie.....	DUPOUY.	Clinique dentaire.....	CAVALIÉ.

MM. MICHELEAU (Médecine générale), MURATET (Anatomie pathologique). GOLSE (Pharmacie).
LACOSTE (Histologie).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie.....	DUBECQ.	Chirurgie générale.....	PAPIN.
id.....	DUFOUR.	id.....	JEANNENEY.
Physiologie.....	FABRE.	id.....	CHARRIER.
Parasitologie et sciences naturelles.....	R. SIGALAS.	id.....	LOUBAT.
Médecine générale.....	N.	Obstétrique.....	PERY.
id.....	AUBERTIN.	id.....	RIVIÈRE.
id.....	DAMADE.	Ophtalmologie.....	BEAUVIEUX.
id.....	PIÉCHAUD.	Dermatologie et syphiligraphie.....	JOULIA.
id.....	DELMAS-MARSALET.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie.	VITTE.
Maladies mentales.....	PERRENS.		

COURS COMPLÉMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire.....	PAPIN.	Puériculture.....	FAUGÈRE.
Physiologie.....	FABRE.	Démonstrations et préparations pharmac.	GOLSE.
Accouchements.....	PERY.	Zoologie et parasitologie.....	R. SIGALAS.
Ophtalmologie.....			
Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes.			
Cours complémentaire annexe. — Prothèse et rééducation professionnelle.....			
id.....			
Clinique dentaire.....			

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A MON PERE .

A MA MERE

A MON FRERE — A MA SOEUR

A MON COUSIN

JEAN GUEVELOU

Elève de l'École principale du Service de Santé de la Marine.

A MES PROFESSEURS DE L'INSTITUTION NOTRE-DAME
DE GUINGAMP

A TOUS MES AMIS

A MES CAMARADES DE L'ÉCOLE PRINCIPALE
DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE ET DES COLONIES

A MES PROFESSEURS DE L'ÉCOLE PRINCIPALE
DU SERVICE DE SANTÉ DE LA MARINE

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL DARGEIN

*Directeur de l'Ecole principale du Service de Santé de la Marine et des Colonies,
Commandeur de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR LE MÉDECIN PRINCIPAL LE CHUITON

*Professeur agrégé des Ecoles de la Marine,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre.*

En le remerciant de nous avoir inspiré
notre sujet de thèse et de nous avoir
constamment guidé dans ce travail.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ AUBERTIN

*Médecin des Hôpitaux,
Chef des travaux pratiques de bactériologie.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR SERVANTIE

*Docteur en médecine et en pharmacie,
Chef de laboratoire adjoint à l'Hôpital Saint-André,
Croix de guerre,*

A MES JUGES

A MON PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MAURIAC

*Professeur de Clinique médicale
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux,
Médecin des Hôpitaux,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre,
Officier de l'Instruction publique.*

Pour le très grand honneur qu'il nous
fait en acceptant la présidence de cette
thèse.

MÉTHODE

ET

MILIEU DE LÆWENSTEIN

POUR

LA RECHERCHE DU BACILLE DE KOCH

INTRODUCTION

Avant la publication, par le Professeur Læwenstein, de ses travaux sur la recherche du bacille de Koch dans le sang, deux méthodes principales étaient employées, l'inoculation, au cobaye, de sang suspect et la recherche directe sur frottis de sang, l'ensemencement sur des milieux de culture donnant rarement des résultats.

Le premier, Villemin, en 1866, montrait que l'infection bacillaire pouvait être provoquée chez des lapins indemnes par l'inoculation de sang de tuberculeux avérés. Les expériences furent ensuite répétées chez le cobaye, qui est l'animal réactif de la tuberculose. Cette méthode d'inoculation est longue. Elle exige, pour être efficace, une quantité de sang importante, qui peut être toxique pour l'animal. Enfin, le pourcentage des résultats obtenus ne dépasse pas 13 p. 100, ainsi que l'ont prouvé, dans de récents travaux, Izard et

Thiry. Cependant, ce procédé d'inoculation au cobaye est resté la méthode la plus usuelle.

Quant à la recherche directe du bacille de Koch sur frottis de sang, le nombre des méthodes préconisées démontre à lui seul leur insuffisance. Ce fut Weischelbaum qui, le premier, en 1884, mit ainsi en évidence le bacille tuberculeux sur trois frottis de sang provenant de sujets morts de tuberculose miliaire aiguë. Ces résultats furent rarement confirmés par la suite. Aussi a-t-on essayé de perfectionner le procédé en traitant le sang de différentes façons. Ce fut l'inoscopie de Jousset, puis l'homogénéisation du caillot soit par la soude (Bezanson, Griffon, Philibert), soit par l'antiformine (Sturm, Schnitter, Kurashige), puis le laquage du sang (Nattan-LARRIER, Bergeron, Baron-Delbecq). Tous ces procédés sont compliqués et ne donnent qu'assez rarement des résultats positifs. Il a fallu les recherches du docteur Caussimon, de Bordeaux, pour expliquer la cause véritable de ces échecs. Par une technique précise et rigoureuse, il démontre que la condition nécessaire pour constater à l'examen direct la présence de bacilles de Koch dépend uniquement du nombre de ces bacilles contenus dans le sang : au-dessus de 160.000 bacilles de Koch par centimètre cube de sang, on retrouve ceux-ci à coup sûr. Entre 1.000 et 5.000, on ne les retrouve plus que dans 22 p. 100 des cas, pour en arriver à un échec à peu près complet si les bacilles sont moins de 1.000 par centimètre cube.

En général, si le nombre de résultats positifs obtenus à partir du sang de tuberculeux est si faible, c'est qu'en clinique le taux de la bacillémie n'atteint que très rarement un chiffre suffisant.

Il faut en conclure que le problème ne peut être résolu qu'en ensemençant le sang suspect sur un milieu favorable, approprié à la culture rapide du bacille de Koch et lui fournissant les éléments et les conditions nécessaires à ses exigences biologiques. Ce qui fut précisément le but des travaux de Lœwentsein.

PLAN

Les travaux de Lœwenstein sur la bacillémie tuberculeuse sont déjà anciens, puisque, dès 1905, il soutenait que cette bacillémie était plus fréquente qu'on ne le croyait jusqu'alors et qu'elle pouvait apparaître avant toute manifestation clinique de tuberculose localisée ou indépendamment d'un substratum anatomo-clinique (localisation pulmonaire, osseuse ou autre).

Ce n'était là qu'une théorie, puisque l'insuffisance des méthodes employées pour déceler cette bacillémie ne lui permettait pas d'en faire la preuve bactériologique. Et c'est dans le but de remédier à la carence des techniques qu'il entreprit ses recherches. Il a abouti ainsi à la découverte de sa méthode et de ses milieux.

Dans ce travail, nous nous limiterons à la valeur intrinsèque de la méthode de Lœwenstein. Nous ne ferons qu'effleurer la discussion sur la bacillémie tuberculeuse, telle que la conçoit Lœwenstein, parce que cette question complexe nous entraînerait trop loin. Nous nous contenterons, à ce sujet, de signaler l'avis et des bactériologistes et des cliniciens.

Voici le plan que nous nous proposons de suivre :

- 1° Exposé détaillé de la technique de préparation du sang, des milieux de culture, des statistiques de Lœwenstein et de ses collaborateurs immédiats. Interprétations par eux des résultats acquis;
- 2° Exposé des critiques faites à la méthode de Lœwenstein par les auteurs étrangers à son laboratoire;
- 3° Mise en valeur du milieu de culture;
- 4° Conclusions.

CHAPITRE PREMIER

EXPOSE DES TRAVAUX DE LÖWENSTEIN

I. — La technique de préparation du sang.

Löwenstein pose, comme condition nécessaire à la culture du sang suspect, la nécessité de débarrasser ce sang de son hémoglobine, « qui est, dit-il, un obstacle au développement du bacille de Koch ». Nous n'avons pas trouvé dans les articles que nous avons traduits la raison d'une telle affirmation, mais il est très formel à ce sujet quand il ajoute qu'on ne doit pas laisser la moindre trace d'hémoglobine. Pour en débarrasser le sang, il prend de l'acide acétique, qui hémolyse les globules, et il élimine cette hémoglobine par des lavages successifs dans de l'eau distillée stérile.

Pour la prise de sang, Löwenstein préconise l'emploi d'une seringue citratée « Hamaüt ». Cette seringue n'est pas nécessaire. A notre avis, il est plus simple de prélever 40 cc. de sang dans une seringue ordinaire, et de mélanger ensuite ce sang avec 3 cc. d'une solution à 10 p. 100 de citrate de soude, ceci pour en empêcher la coagulation.

On répartit aseptiquement ce sang citraté en deux ou quatre tubes spéciaux, soigneusement bouchés, que l'on porte à la centrifugeuse. Cette centrifugation doit durer au moins un quart d'heure et se faire à grande vitesse si l'on veut réunir tous les bacilles dans le culot et n'en pas laisser dans le sérum.

Avec une pipette stérilisée et passée à la flamme, on décante soigneusement en prenant garde de ne pas toucher la

moindre parcelle du culot. Puis, avec 5 cc. d'une solution stérilisée d'acide acétique à 10 p. 100, on lave le culot donné par les 10 cc. de sang; on libère ainsi l'hémoglobine. Quand cette solution a été versée dans les tubes, avec une pipette stérile et bouchée du bout, on remue culot et acide acétique pour que l'hémolyse soit totale.

On centrifuge à nouveau, toujours à grande vitesse, pendant dix minutes. Après cette opération, le contenu des tubes est rouge foncé; ceci rend la décantation délicate, car la couleur est uniforme. Aussi fera-t-on prudemment cette manœuvre, et si l'on craint de toucher à la surface du culot, il est préférable d'y laisser un peu de liquide. Dans les opérations qui vont suivre, tout le travail consiste à laver avec de l'eau distillée, à centrifuger et à décanter jusqu'à ce que l'on ne constate plus la moindre coloration rougeâtre de l'eau.

A chaque addition d'eau, il faut prendre la précaution de bien remuer, afin de mélanger intimement cette eau et le culot. Puis, l'hémoglobine étant à peu près éliminée, il faut effectuer la dernière centrifugation à 3.500 tours, et cela pendant vingt minutes, pour réduire au minimum le culot. Celui-ci, l'opération terminée, n'a plus qu'un volume de 1 cc. au total. Il est d'aspect grisâtre et grumeleux, ce qui n'est pas pour faciliter son application sur le milieu de culture.

Løwenstein insiste beaucoup sur les précautions à prendre pour éviter toute contamination extérieure, et recommande d'agir avec la plus grande asepsie. Si l'on craint, cependant, d'avoir commis quelques fautes dans les nombreuses manipulations que nécessite cette technique, Løwenstein conseille d'appliquer au sang la méthode qu'il avait préconisée en 1924 pour avoir des cultures pures de bacilles de Koch à partir des crachats. Il avait, en effet, démontré qu'en traitant les crachats par une solution diluée d'acide sulfurique, tous les germes étaient tués, sauf l'agent de la tuberculose.

Il faut donc ajouter au culot bien débarrassé de son hémoglobine, 5 cc. d'une solution à 10 p. 100 d'acide sulfurique

stérilisée. On laisse en contact une à deux minutes et l'on centrifuge. On décante et on lave de nouveau à l'eau distillée une à deux fois pour enlever l'excès d'acide sulfurique. On centrifuge chaque fois. Après ce traitement, de grumeleux le culot devient visqueux et onctueux; il est plus facile à ensementer.

Puis on le répartit sur 4 à 5 tubes du milieu de Lœwenstein, dont nous allons donner la formule.

II. — Les milieux de Lœwenstein.

Ils sont au nombre de deux; le second ne diffère du premier que par les doses et par des détails plus nombreux relatifs à sa préparation. Ce second milieu, de beaucoup supérieur, est actuellement le seul employé. Aussi ne citerons-nous le premier milieu que pour mémoire. Ces milieux comprennent les substances les plus favorables au développement de l'agent de la tuberculose. Il a profité de toutes les découvertes faites dans ce sens par Petroff, Beszredka. C'est un milieu à l'asparagine et à l'œuf. Lœwenstein recommande de ne pas y ajouter de peptone, qui serait plutôt nocive pour le bacille de Koch.

MILIEU N° I.

Phosphate monocalcique	0 g. 4
Sulfate de magnésie	0 g. 04
Citrate de soude.....	0 g. 1
Asparagine	0 g. 6
Glycérine	2 g.
Eau distillée	Q. S. P. 100 g.

A 120 cc. de cette solution, on ajoute 6 grammes de farine de pomme de terre et on laisse macérer pendant deux heures.

Après avoir chauffé à 50 degrés pendant un quart d'heure en remuant le liquide, on ajoute quatre œufs entiers et 10 cc. d'une solution à 2 p. 100 soit de rouge congo, soit de

vert malachite. Ces deux solutions doivent être très rigoureusement stérilisées.

Puis on filtre sur gaze.

Le milieu ainsi obtenu est réparti en tubes ordinaires soigneusement bouchés et recouverts d'un capuchon de caoutchouc.

On porte le tout dans l'étuve à coaguler les sérums, en les disposant en plan incliné. La stérilisation doit être faite deux fois à 85 degrés pendant une heure et à un jour d'intervalle.

MILIEU N° II.

1° *Nettoyage des œufs :*

On plonge cinq œufs crus, bien frais, de grosseur moyenne, dans une solution tiède de savon de soude à 5 p. 100.

On les lave ensuite à l'eau chaude.

Puis on les plonge dans une solution de sublimé à 1 p. 1.000 et on les y laisse pendant vingt minutes.

On les relave à l'eau chaude, puis à l'alcool.

2° *Préparation de la solution suivante :*

Phosphate monocalcique	1 g.
Citrate de soude.....	1 g.
Asparagine	3 g.
Sulfate de magnésie.....	1 g.
Glycérine à 30 degrés neutre.....	60 g.
Eau distillée	1.000 g.

A 150 ou 160 cc. de cette solution asparaginée on ajoute :

6 grammes de farine de pomme de terre;

12 cc. de glycérine à 30 degrés neutre.

On cuit le tout pendant un quart d'heure à 100 degrés en remuant fréquemment et on laisse reposer pendant une heure à 56 degrés.

A ce mélange maintenu à 56 degrés, on ajoute quatre des

œufs préparés comme il est indiqué ci-dessus; du cinquième œuf on n'emploiera que le jaune, puis 5 cc. d'une solution stérile soit de vert malachite, soit de rouge congo, à 2 p. 100. Pendant ce temps de préparation, on agitera continuellement le mélange, en s'aidant de perles de verre.

On filtre sur gaze stérile et on répartit le tout en tubes, à raison de 5 cc. par tube.

Ces tubes sont disposés en plan incliné dans le four Pasteur et stérilisés à 85 degrés, pendant deux heures, deux fois, à un jour d'intervalle. Le contrôle de la stérilisation se fera en plaçant les tubes à l'étuve à 37 degrés pendant quarante-huit heures.

Le culot de centrifugation sera donc soigneusement étalé sur ce milieu ainsi préparé. Il est préférable de n'employer que des préparations fraîches du milieu de Lœwenstein, et il faudra éviter la plus faible dessiccation des tubesensemencés. Les tubesensemencés seront conservés en plan incliné, à l'étuve à 38 degrés, après avoir été soigneusement obturés au coton, puis à la cire Golaz.

Le temps nécessaire pour la culture varie de douze à vingt jours dans la majorité des cas. Il ne dépasse pas quatre à cinq semaines dans les cas extrêmes.

Lœwenstein a, en outre, remarqué que parfois une culture positive devenait, avec le temps, négative pendant un moment, pour réapparaître quelques semaines plus tard, d'où la nécessité d'examiner quelques tubes précocement et dans les deux premières semaines. Ce phénomène n'a pas été observé par les autres bactériologistes.

Le culot sanguinensemencé peut donner des cultures macroscopiques, mais dans la majorité des cas Lœwenstein a obtenu des résultats seulement microscopiques. Si l'on ne voit pas apparaître de colonie visible, il ne faut cependant pas conclure à un résultat négatif. Il faut alors racler soigneusement la surface des tubes après des temps variables :

« huit jours, vingt jours, cinq à douze semaines », après l'ensemencement, et examiner le produit de raclage en les colorant au Ziehl-Nielsen. Si cet examen est positif, un simple repiquage sur d'autres tubes frais fournira d'abondantes colonies macroscopiques de bacilles de Koch.

III. — Résultats et Statistiques.

Jusqu'à nos jours, en deux ans, Lœwenstein et ses assistants ont fait quelque 5.000 hémocultures à partir du sang de sujets atteints de diverses maladies. Pour chaque malade, l'hémoculture a été pratiquée aux différents stades de son affection (le sang à examiner leur étant porté au laboratoire sans qu'ils eussent connaissance du donneur). Aussi ont-ils expérimenté la méthode sur un champ très vaste et surtout très varié.

Une première constatation est à faire. Lœwenstein n'a obtenu aucun résultat par sa méthode chez des centaines de témoins, parmi lesquels il y avait des cancéreux, des syphilitiques, des psoriasiques et aussi des sujets normaux.

Voici tout d'abord le détail des résultats obtenus dans les cas d'affections réellement tuberculeuses :

1° *Tuberculose pulmonaire* :

Lœwenstein : 140 cas, 54 positifs.

Fischer : 65 cas, 25 positifs.

Russew : 17 cas, 6 positifs.

Ces résultats ont été obtenus tant dans les tuberculeux cavitaires, à forme évolutive et grave, que chez les phtisiques anciens n'ayant plus de fièvre ni de bacilles de Koch dans les crachats et dont l'état général était bon. Cependant, chez ces derniers, la proportion d'hémocultures positives était bien moindre.

2° *Tuberculose urogénitale :*

E. Löwenstein : 33 cas, 22 positifs.

C'est surtout un de ses collaborateurs, Robert Lichtens-tern, qui s'est attaché à cette question. Il a étudié de nombreux cas de tuberculose rénale aux différentes étapes de leur évolution, depuis le moment d'apparition des premiers symptômes jusqu'après la néphrectomie. Il a pu ainsi faire, en dix à vingt jours, des diagnostics très précoces, en particulier dans trois cas, quelques semaines avant l'apparition de bacilles de Koch dans les urines.

Il propose encore l'hémoculture comme moyen de pronostic des suites opératoires. Si le malade est en bonne voie de guérison, la bacillémie disparaît rapidement. Il n'en est plus de même s'il persiste de la fièvre et si le malade a tendance à fistuliser. Les hémocultures, dans ces cas, restent positives.

3° *Tuberculose osseuse :*

Löwenstein : 18 cas, 9 positifs.

Tischer : 12 cas, 5 positifs.

Russek : 8 cas, 6 positifs.

4° *Tuberculose cutanée :*

Löwenstein : 347 cas, 117 positifs.

Kren : 66 cas, 41 positifs ainsi répartis.

Erythème induré de Bazin : 14 cas, 12 positifs;

Lupoïde, lupus vulgaire ou érythémateux, scrofulo-derme : 52 cas, 29 positifs.

Löwenstein a obtenu ces résultats dans diverses affections cutanées tuberculeuses, et d'après toutes les statistiques parues jusqu'à nos jours, c'est la maladie de Bazin qui a fourni le pourcentage de résultats positifs le plus important.

Kren a, en outre, démontré, par des examens pratiqués à plusieurs mois d'intervalle, que cette bacillémie est tenace et persistante et qu'elle ne disparaît qu'avec la maladie. Il prouve aussi la réalité de la bacillémie tuberculeuse, même dans les formes les plus bénignes de tuberculose de la peau. Il insiste enfin sur la fréquence des résultats positifs obtenus par la méthode de Lœwenstein, alors que l'inoculation simultanée au cobaye de sang venant de ces malades ne donnait que des échecs.

5° *Tuberculose laryngée* :

Lœwenstein : 47 cas, 28 positifs.

6° *Tuberculose oculaire* :

Lœwenstein : 4 cas, 3 positifs.

7° *Tuberculoses diverses* :

Fischer et Uργοiti : 615 cas, 253 positifs.

Jérusalem et Uργοiti : 60 cas, 10 positifs.

Au total, voici les pourcentages obtenus d'après les statistiques publiées par Lœwenstein et ses collaborateurs, dans les différentes manifestations cliniques de la tuberculose :

Tuberculose pulmonaire grave, à forme évolutive,
70 p. 100.

Tuberculose torpide, avec bon état général, 10 p. 100;

Tuberculose urogénitale, 65 p. 100;

Erythème induré de Bazin, 85 p. 100;

Diverses autres formes de tuberculose cutanée, 40 p. 100;

Tuberculose laryngée, 60 p. 100;

Tuberculose osseuse, 70 p. 100;

Tuberculose oculaire, 75 p. 100.

*
**

Mais les investigations de Lœwenstein ne se sont pas limitées aux manifestations tuberculeuses. Ils ont recherché la bacillémie tuberculeuse dans les affections les plus variées

et d'origine inconnue. Là encore, la méthode a donné des résultats positifs :

Sclérose en plaques : 40 cas, 17 positifs;

Chorée : 9 cas, 5 positifs;

Névrite rétrobulbaire : 6 cas, 4 positifs;

Schizophrénie : 24 cas, 9 positifs.

Il est surtout une autre affection qui a retenu leur attention, c'est le rhumatisme articulaire aigu. Déjà, Poncet, dans ses travaux, avait démontré les relations qui pouvaient exister entre cette affection et l'infection tuberculeuse. Et les résultats de ses recherches furent la description du rhumatisme tuberculeux qui porte son nom — le rhumatisme vraiment tuberculeux peut simuler, surtout par ses symptômes de début, l'affection rhumatismale banale (maladie de Bouillaud). Mais le rhumatisme articulaire aigu se caractérise par sa grande mobilité, par l'efficacité du traitement salicylé, et surtout par la constance des lésions endopéricardiques, à tel point que Bezanson a pu dire qu'il était une maladie du cœur dont les manifestations articulaires ne sont que des phénomènes secondaires. Le rhumatisme, dit de Poncet, est moins mobile, touche peu le cœur, a une évolution bien plus longue. Alors que la maladie de Bouillaud cède aux salicylates, le rhumatisme tuberculeux, après des périodes de rémissions de durée variable, aboutit bien souvent à une localisation tuberculeuse, osseuse ou viscérale. Poncet concluait donc à l'existence de deux affections rhumatismales différentes, dont le diagnostic est souvent délicat, l'une d'origine certainement tuberculeuse, l'autre à germe inconnu. Reitter, de Vienne, a remis la question à l'étude. Il s'est spécialement attaché à rechercher la relation de cause à effet qu'il peut y avoir entre le bacille de Koch et les formes de rhumatisme articulaire aigu les plus pures, dans la maladie de Bouillaud par conséquent. Il a soigneusement choisi ses malades, éliminant tous ceux qui étaient suspects de tuberculose quelle qu'elle fût.

En 1929, un an avant la publication de la méthode de Lœwenstein, Reitter rapporta à la Société médicale de Vienne les résultats de ses recherches dans les exsudats obtenus par ponction des articulations atteintes de rhumatisme. A partir de ces exsudats traités par la méthode à l'antiformine, il mit en évidence, dans 13 cas, des bâtonnets acido-résistants, qui étaient des bacilles de Koch, ainsi que le prouvèrent différentes inoculations au cobaye.

Dès que Lœwenstein, en 1930, eut mis au point sa technique d'hémoculture, Reitter continua ses recherches, cette fois à partir du sang. Ce sang était prélevé en pleine poussée fébrile et avant toute médication salicylée. Les résultats furent des plus inattendus. Sur 27 cas examinés, 22 donnèrent des résultats franchement positifs, soit une proportion de 80 p. 100, plus forte que dans la tuberculose osseuse, pulmonaire ou rénale, et n'ayant d'égale que celle de l'érythème induré de Bazin. Cette hémoculture positive, du 10^e au 30^e jour, se répétait avec le même succès à chaque poussée thermique. Elle redevenait négative avec la disparition de la fièvre et après la médication salicylée.

Lœwenstein s'est demandé s'il n'était pas en présence de simples « bacilles de sortie », qui, à la faveur d'une poussée thermique élevée, pourraient se libérer de leur prison ganglionnaire et se jeter dans le torrent circulatoire. Cette hypothèse était d'autant plus plausible qu'en période apyrétique et à la guérison l'hémoculture ne donnait que des résultats négatifs. Pour la contrôler, il répéta les mêmes expériences dans des maladies à fortes températures, comme la typhoïde et la pneumonie. L'hémoculture fut toujours négative dans ces cas.

K. Amersbach et Arnold Lœwenstein ont, quelque temps après, donné une preuve complémentaire de la réalité de la présence du bacille de Koch dans le rhumatisme articulaire aigu, en ensemençant le milieu de Lœwenstein à partir d'amygdales prélevées chez des rhumatisants. Le sang et le tissu amygdalien étaient cultivés simultanément. Dans 14 cas

ainsi étudiés, la culture amygdalienne fut 5 fois positive, alors que l'hémoculture restait négative. Les bacilles isolés paraissaient se rattacher aux bacilles bovins, et leur pouvoir pathogène fut prouvé par l'inoculation au cobaye.

Ces bacilles isolés tant dans les affections tuberculeuses que dans les différentes maladies que nous venons de citer sont-ils de véritables bacilles tuberculeux ? Lœwenstein répond de la façon la plus formelle par de nombreuses inoculations faites successivement à partir des cultures à des lapins, des poules et des cobayes, qui ont présenté des types divers de lésions tuberculeuses. Il a pu ainsi isoler des bacilles de Koch du type bovin dans le rhumatisme articulaire aigu, et du type aviaire dans deux cas de névrite rétro-bulbaire.

En résumé, et en conclusion des différents travaux de Lœwenstein et de son entourage, la méthode d'hémoculture serait :

1° Un moyen de diagnostic précoce, rapide, de la tuberculose dans ses formes de début; ainsi le prouve Lœwenstein par les résultats positifs qu'il a obtenus dans la tuberculose rénale quelques semaines avant l'apparition du bacille de Koch dans les urines;

2° Un moyen pronostic, puisque ce même Lichtenstern obtient des hémocultures positives après néphrectomie chez des malades aux suites opératoires malheureuses;

3° Un moyen plus sûr, plus rapide, que ne l'est l'inoculation au cobaye. C'est ce qui résulte d'une des dernières statistiques de Lœwenstein sur la valeur comparée de l'hémoculture et de l'inoculation au cobaye.

Sur 41 cas examinés :

Dans 2 cas, l'inoculation seule fut positive;

Dans 13 cas, les résultats de l'hémoculture et de l'inoculation furent concordants.

Dans 26 cas, enfin, seule la méthode de Lœwenstein a pu révéler la présence de bacilles de Koch.

Par l'hémoculture, des colonies macroscopiques sont apparues avant la quatrième semaine.

Par l'inoculation de sang au cobaye, il a fallu attendre six mois et, dans 2 cas, un an avant de pouvoir décider du résultat.

Au point de vue pathologie générale, Lœwenstein peut tirer les conclusions suivantes :

1° La bacillémie tuberculeuse est un phénomène très fréquent. Elle est d'autant plus constante que la maladie est en pleine évolution. Elle reste certaine dans nombre de cas de tuberculose chronique, surtout pulmonaire. Kren met en évidence la fréquence et la persistance de la bacillémie tuberculeuse dans les affections cutanées les plus bénignes.

2° Les résultats obtenus dans la chorée, la névrite rétro-bulbaire, la schizophrénie, la sclérose en plaque, ouvrent des horizons nouveaux dans la recherche de l'étiologie de ces affections. Enfin, la fréquence des hémocultures positives obtenues dans le rhumatisme articulaire aigu, type maladie de Bouillaud, pose la question d'une relation de cause à effet entre le bacille de Koch et cette maladie.

CHAPITRE II

LA MÉTHODE DE LÆWENSTEIN DEVANT LA CRITIQUE

Les résultats sensationnels obtenus et publiés par le Professeur Læwenstein ne manquèrent pas de provoquer un gros émoi dans le monde médical. Aurait-on enfin trouvé un moyen de trancher définitivement la question de la bacillémie tuberculeuse qui a toujours été d'actualité ? L'intérêt pratique immédiat de cette méthode serait évident puisque, grâce à elle, on pourrait obtenir un diagnostic très précoce en 10 à 30 jours, alors que l'inoculation de sang au cobaye demande un laps de temps plus considérable. Cependant ce n'est qu'avec les plus grandes réserves que l'on accueille les résultats obtenus par Læwenstein et surtout ceux qu'il publia concernant le rhumatisme articulaire aigu.

De nombreux bactériologistes et cliniciens répétèrent aussitôt les mêmes expériences un peu partout dans les laboratoires du monde entier, surtout en France et en Allemagne. Pour connaître la technique de Læwenstein dans ses moindres détails, plusieurs d'entre eux se rendirent à son laboratoire de Vienne où il les initia à sa pratique. Mais, qu'ils aient été à Vienne, ou qu'ils soient restés dans leurs laboratoires, aucun d'entre eux n'a jamais pu confirmer les expériences de Læwenstein. Certes, nombreux sont ceux qui ont obtenu quelques résultats, mais, nous le verrons dans la suite, la meilleure statistique, celle de Popper, n'a pas atteint une proportion de 20 p. 100, alors que la plus mauvaise de celles de Læwenstein donne un résultat positif dans plus de 40 p. 100 des cas.

En présence de telles divergences, plusieurs explications ont été cherchées.

Pendant les nombreuses opérations que nécessite cette technique, le sang n'est pas à l'abri des contaminations. Depuis longtemps, Ameuille et récemment Boguet, ont démontré la diffusion du bacille de Koch dans les laboratoires où l'on étudie ce germe.

N'est-il pas arrivé que des humeurs, des organes certainement non tuberculeux aient fourni soit des cultures, soit des inoculations au cobaye positives ? Certes l'acide sulfurique élimine les causes banales de contamination, mais il respecte le bacille de Koch quelle qu'en soit l'origine.

La stérilisation du milieu, lui-même, n'a pas été à l'abri des critiques. Saenz, au cours d'une hémoculture positive, isola un bacille de Koch du type aviaire. Aussi, différents auteurs se sont demandé s'il ne fallait pas incriminer la stérilisation insuffisante du jaune d'œuf. Cependant Saenz, lui-même, a démontré que la stérilisation pratiquée comme le conseille Lœwenstein (deux fois à 85 degrés pendant deux heures à un jour d'intervalle) est bien suffisante. En opérant ainsi et après avoir ajouté, au préalable, des bacilles de Koch au milieu de culture, Saenz a prouvé que les milieux restaient stériles.

L'on a émis aussi des doutes sur la nature tuberculeuse des différents bacilles acido-résistants, isolés par Lœwenstein. Comment se fait-il que, bien souvent, les cobayes inoculés avec le même sang que celui qui sert à l'hémoculture ne présentent aucune lésion tuberculeuse même après un temps très long d'observation ?

Les autres expérimentateurs, dans leurs rares résultats positifs, ont pu isoler des bacilles de Koch d'origines les plus diverses. Nanu, Joesco et Stefanescu ont inoculé au cobaye des parcelles de cultures obtenues à partir du sang d'un rhumatisant tuberculeux — et ces bacilles ont déterminé des lésions du type Villemin. Saenz, par le même procédé, isola un bacille de Koch du type aviaire, et des

bacilles paratuberculeux, à peu près inoffensifs pour les animaux inoculés. Armand-Delille, Lestoquoy et Y. Manceau, par le même procédé, ont conclu à la réalité d'un bacille de Koch, mais de virulence atténuée, dans le cas d'hémoculture positive qu'ils ont obtenu. Nous ne pouvons malheureusement pas parler de la virulence des bacilles acido-résistants isolés dans les cas de rhumatisme articulaire aigu, ne sachant pas si elle a été recherchée par les auteurs étrangers au laboratoire de Lœwenstein.

A un autre point de vue, Frieda Abt s'est demandé s'il était vraiment nécessaire de débarrasser le sang de son hémoglobine. Pour cela, une série de cultures a été faite par le procédé de l'ensemencement direct, une autre après traitement par l'acide acétique seul et une troisième après traitement à l'acide acétique et à l'acide sulfurique. Les résultats ont été sensiblement supérieurs par l'ensemencement direct du sang suspect. Aussi conclut-il que, contrairement à l'opinion de Lœwenstein, l'hémoglobine n'est nullement un obstacle à la croissance du bacille de Koch.

Ce sont surtout et avant tout les statistiques qui contredisent les résultats obtenus par Lœwenstein et son entourage. René S. Mach et Saenz, qui sont allés à Vienne, n'ont pas mieux réussi que les autres et c'est ce qui ne laisse pas de paraître étrange.

Nous suivrons le même plan qu'au premier chapitre pour la présentation des statistiques, c'est-à-dire que nous signalerons les travaux entrepris dans la tuberculose en général, puis dans le rhumatisme articulaire aigu.

Les statistiques dans les affections tuberculeuses.

A. — *Résultats partiellement positifs.*

NANU, JONESCO, STEFANESCO (de Bucarest) :

Sur 21 hémocultures pratiquées, *deux* ont donné des résultats positifs dans un cas de pleuro-péritonite tuberculeuse

et un cas de rhumatisme articulaire aigu tuberculeux simulant la maladie de Bouillaud.

OBS. I. — M. B..., 23 ans, maîtresse d'école, entre dans le service pour une pleuro-péritonite bacillaire datant d'un mois et demi. Pleurésie double, sérofibrineuse, exsudat péritonéal à Rivalta positif. Fièvre hectique, grand amaigrissement. Etat d'excitation psychique, faisant craindre une localisation méningée. Pas de bacilles de Koch dans les crachats ou les selles.

Ensemencement le 15 mars. Résultat positif le 15 avril.

OBS. II. — J. B..., âgée de 16 ans, entre dans le service pour des douleurs articulaires et de la fièvre. Paludisme à 7 ans. En 1930, apparition de douleurs intenses dans les deux genoux. Elle n'a pas de fièvre et guérit en une semaine seulement avec des onctions locales au salicylate de méthyle.

A l'examen, on se trouve en présence d'une malade débile, pâle. Température à 39 degrés avec douleurs intenses dans les genoux, les coudes, les poignets, sans tuméfaction ni rougeur des téguments.

La pointe du cœur bat au 5^e espace. On entend des frottements nets à la base, moins nets à la pointe. Les bruits du cœur sont sourds et l'on perçoit un souffle à la pointe avec propagation vers l'aisselle. Le pouls est à 120. La rate n'est pas palpable.

On institue alors un traitement salicylé à fortes doses, 10 à 12 grammes de salicylate de soude par jour, et des cachets anti-névralgiques.

Le lendemain, la température baisse et reste normale quelques jours; les arthralgies diminuent et disparaissent. Mais les jours suivants, malgré l'ingestion de 12 grammes de salicylate de soude par jour, la température reste subfébrile (38°), le pouls est aux environs de 100. La malade est en état de légère dyspnée.

Le 18 mars 1931, la température s'élève brusquement à 39 degrés avec de grandes oscillations. Un traitement salicylé intra-veineux paraît plus actif et en cinq jours la température redevient normale. La régression de l'exsudat péricardique est lente. Le 30 mars, les pulsations sont visibles à l'écran. Il ne persiste plus

qu'un léger souffle systolique, une tachycardie autour de 100 par minute et un bruit de galop.

Malgré cette amélioration et quoique la malade ait pris tout le temps du salicylate, elle a fait jusqu'au 28 juin 6 rechutes de durées variables, avec accentuation des signes endopéricardiques.

Examen de laboratoire. — Examen du sang effectué le 23 mars : hématies 3.660.000, leucocytes 8.160 ainsi répartis : neutros, 67 p. 100; éosinophiles, 5 p. 100; basophiles, 1 p. 100; lymphocytes, 26 p. 100.

L'hémoculture sur bouillons bile, milieu Truche a toujours été négative.

Le 1^{er} avril, hémoculture selon le procédé de Læwenstein. Examinés le 10 avril, les milieux de cultures donnent un résultat positif. Sur les préparations obtenues après raclage du milieu, on observe des bacilles fins, granuleux et peu acido-résistants. Certains de ces bacilles granuleux se décolorent par la méthode de Ziehl. Le 16 avril, apparaissent des formes typiques de bacilles de Koch.

L'inoculation au cobaye faite le 26 avril dans le péritoine, à la dose de 0 mg. 1 de bacilles de Koch pris à l'état frais, produit, en trente-deux jours, des lésions accentuées des ganglions périportaux, de la rate, du foie et des adhérences étendues du péritoine. La rate et le foie contiennent de nombreux tubercules montrant le bacille de Koch à l'examen microscopique. Ces auteurs concluent à un bacille de Koch de virulence moyenne.

Une deuxième hémoculture faite chez la même malade a été négative.

Ce fut donc l'hémoculture par le procédé de Læwenstein qui démontra la nature de ce rhumatisme et en fit reconnaître l'origine tuberculeuse.

Il nous semble que l'évolution de ce cas peut nous autoriser à le ranger dans le cadre des rhumatismes tuberculeux.

POPPER :

Diverses formes de tuberculose : 17 cas, 3 positifs. Les échantillons de sang furent traités dans deux laboratoires différents, qui ont fourni des résultats concordants.

René S. MACH et E. MACH :

Tuberculose pulmonaire grave : 60 cas, 6 positifs. Les cultures sont restées microscopiques et ont apparu au bout d'un laps de temps variant de quatre, six, huit semaines.

EDERLE et KRIECH :

Les 34 échantillons prélevés chez des tuberculeux ont donné les résultats suivants :

Tuberculose miliaire : 4 cas, 2 positifs.

Tuberculose pulmonaire : 30 cas, 2 positifs.

PARAF et A. BAZA :

Leurs travaux ont porté sur l'examen de sang prélevé chez des tuberculeux, à différentes étapes de leur évolution. Ils ont obtenu des résultats positifs dans deux cas de granulie, dont un compliqué de méningite. En même temps que chaque hémoculture, ils ont inoculé du sang au cobaye. Pour les 2 cas positifs observés par hémoculture, alors qu'au cours de la maladie trois examens étaient pratiqués, tant par la culture que par l'inoculation, une fois seulement l'hémoculture donna un résultat; tandis que les 6 inoculations furent positives.

MEERSSEMAN, MAROT et LUMARET (de Lyon) :

Examen de 37 cas de tuberculose, dont 19 représentaient les formes graves et 18 des formes bénignes ou suspectes. Ils ont obtenu un résultat positif dans un cas de primo-infection chez un Algérien dont voici l'observation :

Il arrive à l'hôpital dans un état critiqué; température irrégulière. Amaigrissement et anémie. La bacilloscopie est restée négative, mais à la radio il est apparu une volumineuse adénopathie médiastinale.

Le résultat a été obtenu en deux mois et demi et a montré de rares bacilles au raclage. Le repiquage a fourni des

bacilles de Koch typiques, qui, inoculés au cobaye, ont tué celui-ci en un mois.

DOMINGO (de Barcelone) :

Examen de 172 cas de tuberculose grave ou d'affections suspectes de tuberculose.

L'hémoculture s'est montrée six fois positive et dans les affections suivantes :

- 2 cas de septicémie tuberculeuse;
- 1 cas de tuberculose pulmonaire et laryngée;
- 1 cas de tuberculose pulmonaire fibrocaséuse;
- 1 cas de tuberculose pleuropulmonaire;
- 1 cas de tuberculose pulmonaire ulcérohématogène.

Dans sa communication à la Société de biologie, Domingo ne présente malheureusement aucune histoire clinique de ces malades.

ARMAND-DELILLE, Ch. LESTOQUOY, Y. MAUREAU :

Après 14 échecs, une hémoculture s'est montrée positive chez un nourrisson atteint de tuberculose pulmonaire, simulant une broncho-pneumonie.

Voici l'observation qu'ils ont publiée.

La petite Jeannette C... est envoyée à l'hôpital Hérold, le 8 janvier 1932, pour broncho-pneumonie avec élévation de la température depuis trois jours. Dyspnée et toux. Cette enfant a été nourrie au sein d'abord, au lait de vache ensuite. La mère se porte bien, mais le père paraît tuberculeux, et l'enfant a toujours vécu à son contact.

A l'examen d'entrée, l'enfant est pâle, amaigrie, pesant seulement 5 kg. 575. Légers stigmates de rachitisme. Dyspnée intense avec battements des ailes du nez. Le pouls est rapide. Ni coryza, ni signes de rhino-pharyngite. Muguet buccal. Température à 39°5 le soir, avec faible rémission le matin. A la percussion du poulmon, rien de notable. A l'auscultation, on constate dans les deux

tiers inférieurs des deux poumons un souffle assez marqué avec des râles humides, gras et fins. Le cœur est normal. Le foie, la rate, le rein, ne sont pas augmentés de volume. Une cuti-réaction pratiquée le jour de l'entrée fut franchement positive deux jours après. La radioscopie, faite le 13 janvier, montre une ombre dense de la partie moyenne du poumon gauche, seul le sommet et le sinus costo-diaphragmatique restent clairs. A droite, il existe une accentuation marquée des ombres hilaires, avec de petites taches disséminées dans tout le champ pulmonaire.

Pas de bacille dans le contenu gastrique.

Le 27 janvier, application de la méthode de Løwenstein.

Le 2 février 1932, l'enfant meurt, et l'autopsie confirme le diagnostic de tuberculose grave.

Le 18 février, bien qu'il n'y eût pas de colonie macroscopique, un raclage de la surface du milieuensemencé, après coloration au Ziehl, montra de nombreux bacilles de Koch isolés ou groupés en amas compacts. Le repiquage sur milieu de Løwenstein donna cette fois de belles cultures. Ils injectèrent au cobaye 1 milligramme de bacilles de Koch provenant de cette culture, provoquant ainsi une adénopathie inguinale et axillaire notable sans abcédation locale.

Les auteurs conclurent à la réalité d'un bacille de Koch, mais dont la virulence est atténuée.

M^{me} MOOS-SCHWABACHER :

Elle a appliqué la méthode de Løwenstein à 16 cas de formes chroniques de tuberculose. Elle a obtenu un résultat positif en trente jours, dans un cas de tuberculose pulmonaire chronique.

FRIEDA ABT :

Il a examiné le sang de malades tuberculeux, et sur 20 cas, il a obtenu 4 réponses affirmatives. Le sang prélevé sur 4 cadavres de tuberculeux s'est montré positif dans la suite.

Nous pouvons rapprocher les résultats obtenus à partir de ce sang des cadavres tuberculeux de ceux de Manteuffel et Kottmann, qui ont été positifs dans 3 sur 3 à partir du sang de cobayes morts spontanément de leur affection tuberculeuse. Ceci s'explique par le fait qu'à l'agonie, il se produit une grande décharge bacillaire dans le torrent circulatoire, et le nombre de bacilles de Koch qui sont ainsi déversés est tel qu'il est facile de les mettre en évidence.

SAENZ :

Malgré son passage à Vienne, il n'a pas été plus heureux dans ses essais, et, cependant, il a fait quelque 500 hémocultures. Le sang des malades provenait des services de plusieurs professeurs et médecins des hôpitaux de Paris; 26 hémocultures seulement se sont montrées positives.

Sur ces 26 résultats :

9 cultures étaient macroscopiques, mais seulement dans quelques-uns des six tubesensemencés pour chaque échantillon de sang préparé. Les colonies de bacilles de Koch sont apparues dans 1 cas, au douzième jour; dans 2 cas, en dix-neuf jours, et dans tous les autres, en trente à quarante jours.

Les 17 autres cas furent reconnus positifs par examen microscopique seulement. Cependant, il a souvent retrouvé des bacilles en abondance non repiquables *in vitro*. Il est intéressant de signaler la diversité des types de bacilles acido-résistants isolés par Saenz.

Chez un lupique, il a obtenu un bacille de Koch du type aviaire. Il se rencontre à ce sujet avec Lœwenstein; Nicolau et Blumental ont pu, d'ailleurs, retrouver le même bacille dans la tuberculose cutanée, en cultivant des fragments de peau malade.

Chez un autre sujet qui présente des symptômes cliniques de nature indéterminée (poussées fébriles, manifestations ganglionnaires, osseuses et nerveuses), Saenz a pu, par la méthode de Lœwenstein, cultiver un bacille acido-alcoololo-

résistant. qui s'est montré à peu près dépourvu de propriétés pathologiques. Inoculé sous la peau du cobaye, il ne détermine qu'une hypertrophie ganglionnaire sous-lombaire, sans caséification. En examinant ces ganglions, il a pu y déceler le bacille de Koch à partir du trente-deuxième jour.

A la dose de 1 milligramme, et en injection intraveineuse, il ne détermine aucune lésion chez le lapin.

A la dose de 10 milligrammes, on n'observe pas non plus de lésions, mais on retrouve le bacille en abondance et jusqu'au quarantième jour, dans le foie et la rate.

La poule, de son côté, résiste à l'inoculation massive de ce bacille.

Il conclut à un bacille paratuberculeux, qu'il appelle bacille type Blandin.

Nous pouvons encore citer plusieurs statistiques dont nous n'avons pas le détail :

HÆGER : 133 cas de tuberculoses diverses, 17 cas positifs.

HUTTIG : 59 cas de tuberculose pulmonaire, 7 cas positifs;

LANG : 14 cas de tuberculose pulmonaire, 2 cas positifs;

POLLACK : 35 cas de tuberculoses diverses, 5 cas positifs;

L. RABINOVITCH : 14 cas de tuberculose pulmonaire,
11 cas positifs;

RICHTER : 43 cas de tuberculoses diverses, 3 cas positifs;

SAEGLER : 158 cas de tuberculoses diverses, 11 cas positifs.

B. — RÉSULTATS ENTIÈREMENT NÉGATIFS.

Mais ils sont presque aussi nombreux ceux qui ont complètement échoué dans leurs expériences.

IZARD et THIRY :

13 hémocultures de tuberculose pulmonaire, 5ensemencées sur milieu de Petrof, le reste sur milieu de Lœwenstein.

Cecily WEATHERAIL :

Rien que des échecs dans l'hémoculture de 40 échantillons de sang provenant du cœur de cobayes aux lésions tuberculeuses étendues. Il en est de même avec le sang de 20 sujets atteints de tuberculose pulmonaire.

F. KOCH :

Cet auteur n'a pas été plus heureux dans l'hémoculture de tuberculose cutanée.

BINGOLD et SPIER :

Ils poursuivaient leurs études déjà anciennes sur la recherche du bacille de Koch dans le sang, lorsque Lœwenstein publia ses travaux et ses statistiques. Ils n'ont jamais pu confirmer les résultats obtenus par le professeur viennois.

Voici encore d'autres auteurs qui n'eurent que des résultats négatifs : Machioro (188 cas), Kadish (66 cas), OEkonomopoulo, P. de Joannides (18 cas), Cohn (27 cas), d'Antona (30 cas), Giannetti (23 cas), Walter et Horing (92 cas), Mantouffet et Kottmann (30 cas), Grimm (18 cas de tuberculose cutanée). Nous-même, nous nous sommes intéressé à la méthode de Lœwenstein : sous la direction de M. le médecin principal Le Chuiton, Professeur à l'Ecole de Santé navale, nous avons pratiqué plusieurs hémocultures tant dans la tuberculose que dans le rhumatisme articulaire aigu.

Pour chaque hémoculture, nous avonsensemencé six tubes du milieu de Lœwenstein, deux sans acide sulfurique, les quatre autres après avoir traité le culot par l'acide sulfurique.

Nous avons ainsi traité le sang provenant de six cas de tuberculose ainsi répartis : 2 cas de mal de Pott avec fièvre, 2 cas d'orchépididymite tuberculeuse grave avec poussées fébriles (ces cas ont été pris dans le service de M. le Professeur Chavannaz), 1 cas de tuberculose pulmonaire cavitair et 1 cas de rhumatisme tuberculeux (Hôpital Saint-Nicolas).

Grâce aux grandes précautions que nous avons prises, peu des tubesensemencés avec le culot non traité par l'acide sulfurique étaient souillés.

Nous n'avons jamais pu obtenir de cultures positives par examen du produit de raclage, après dix, vingt, trente jours et même trois mois.

Nous ajoutons à notre statistique les 7 cas de tuberculoses diverses traités par M. le Docteur Servantie. Lui aussi n'a obtenu que des échecs.

Pour bien mettre en évidence la disproportion des résultats obtenus par Lœwenstein et son entourage, d'une part, et ceux obtenus par tous les autres expérimentateurs, d'autre part, dans le cas de tuberculose, il nous suffira de juxtaposer les deux statistiques globales:

Statistique de Lœwenstein, d'après Saenz : 4.539 hémocultures, dont 639 furent positives, soit une proportion de 42 p. 100.

Statistiques des auteurs que nous avons cités : 2.100 hémocultures, dont 115 seulement furent positives, soit 5 p. 100.

Si nous passons en revue les cas dans lesquels un résultat positif a été acquis, nous constatons que les malades qui ont fourni ces résultats étaient à peu près tous dans un état grave : ce sont les 6 cas de Mach, la pleuro-péritonite citée par Nanu, les 6 tuberculoses pulmonaires évolutives de Domingo, la broncho-pneumonie tuberculeuse de Meerssemann, les tuberculoses miliaires d'Ederle et Kriech. Le lupique de Saenz était dans un état grave. Seule Mme Moos-Schwalacher a eu un résultat positif dans le sang d'un tuberculeux chronique, avec bon état général. Alors que Kren obtient des résultats imposants dans les diverses modalités de tuberculose cutanée, les autres n'ont rien obtenu, à part un cas cité par Saenz.

L'hémoculture n'a, par conséquent, donné de résultats affirmatifs que dans les cas de septicémie tuberculeuse évidente. L'examen direct ou l'inoculation au cobaye auraient pu donner des résultats identiques et peut-être même dans

une proportion supérieure. C'est ce qu'ont démontré différents expérimentateurs en pratiquant simultanément l'hémoculture et l'inoculation de sang au cobaye.

Izard et Thiry, par comparaison de l'inoculation de sang au cobaye avec les hémocultures, ont obtenu des résultats dans 13 p. 100 des cas par l'inoculation, alors qu'ils ont chaque fois échoué par hémoculture selon la méthode de Lœwenstein. Cécily Weatherail, qui n'a rien vu pousser dans 40 hémocultures, a au moins obtenu un résultat positif par l'inoculation au cobaye, et cela en neuf semaines. Les résultats ainsi obtenus sont plus constants, ainsi que le prouvent les expériences de Paraf et Abaza. Dans les 2 cas positifs qu'ils ont obtenus, ils pratiquèrent simultanément une hémoculture et une inoculation au cobaye pour chaque cas et cela par trois fois. Les six cobayes inoculés ont présenté chaque fois des lésions tuberculeuses, alors que deux fois seulement (une fois pour chaque cas) l'hémoculture a donné le diagnostic.

Certes, le temps d'inoculation est plus long, mais si quelques auteurs ont pu obtenir des cultures en dix à trente jours, bien souvent le temps de culture a été prolongé à deux et à trois mois.

*
**

Les assertions de Lœwenstein sur l'origine tuberculeuse de plusieurs affections jusque-là d'origine inconnue soulèvent des critiques encore plus sévères. Nous aurons à faire la part de la bactériologie, mais aussi et surtout de la clinique, qui doit reprendre ses droits quand le laboratoire ne fournit pas les preuves précises et rigoureuses qui lui sont demandées.

Nous ignorons si d'autres auteurs que Lœwenstein et ses collaborateurs ont appliqué la méthode à l'examen du sang dans la chorée, la schizophrénie, la névrite rétrobulbaire mais dans la sclérose en plaques des tentatives ont été faites par R. S. Mach et E. Mach (dans 5 cas), par Ederle et Kriech (dans 5 cas). Aucune hémoculture ne fut positive.

Les résultats obtenus dans le rhumatisme articulaire aigu ont été aussi décevants. A quelques unités près, tous les expérimentateurs sont d'accord par leurs statistiques négatives. Saenz, Sigen (dans 16 cas), Ramel et Chomé-Meersse-mann (38 cas), Frieda Abt, Izard et Thiry (dans 13 cas), Muggia (dans 5 cas), Giannetti (dans 11 cas), Ederle et Kriech (dans 5 cas). Walter et Horing n'ont que des échecs dans leurs tentatives de recherche du bacille de Koch dans le sang de rhumatisants.

Nous-même nous avons appliqué la méthode de Löwenstein à 6 échantillons de sang pris dans 5 cas à de jeunes soldats atteints de rhumatisme articulaire aigu typique avec lésions valvulaires. 3 de ces soldats étaient à leur première manifestation rhumatismale. Des deux autres, l'un présentait, au moment où nous lui avons fait la prise de sang, une première récurrence; quant à l'autre, il était atteint d'un rhumatisme généralisé à toutes les articulations et qui datait de l'âge de 8 ans. Tous ont très bien réagi au salicylate, qui eut vite raison de l'affection.

La sixième hémoculture fut faite à partir du sang d'une malade du Service de M. le Professeur Mauriac. Il s'agissait ici d'un rhumatisme, avec signes cardiaques, compliqué de déformations articulaires. En outre, la malade présentait un érythème annulaire télangiectasique de Majocchi.

Nous n'avons pas mieux réussi que dans l'hémoculture du sang des tuberculeux.

Trois autres expérimentateurs ont été plus heureux.

1° POPPER : 44 cas de rhumatisme, 7 cas positifs.

Mais il pense que dans la plupart de ces cas le passage du bacille de Koch dans le sang est dû à la forme aiguë de la maladie, qui aurait ravivé un foyer tuberculeux latent.

2° DOMINGO obtient aussi 2 hémocultures positives sur 8 dans des cas de rhumatisme subaigu. Les cultures étaient très pauvres en bacilles de Koch. Même par repiquage, elles n'ont pas pu donner des cultures macroscopiques. Malheureusement, cet auteur signale ses résultats sans publier les obser-

vations des deux malades chez qui l'hémoculture s'est montrée positive. Il ne parle pas non plus de l'inoculation au cobaye du bacille de Koch, il se contente d'ajouter que l'une des souches isolées est du type bovin.

3° René S. MACH et E. MACH ont publié, à la séance du 5 mars 1932 de la Société de biologie, les observations cliniques des deux résultats positifs qu'ils ont obtenus dans 2 cas sur 5 de rhumatisme articulaire aigu type maladie de Bouillaud.

N° 1. — P..., 22 ans, sans aucun antécédent tuberculeux, a eu à l'âge de 20 ans une crise de rhumatisme articulaire aigu. Il entre à Bichat le 31 décembre 1931, avec une température de 38°8, une tuméfaction douloureuse des poignets et des genoux, qui cède en quatre jours au salicylate intraveineux. Aucun signe d'altération pulmonaire. Image typique de maladie de Bouillaud. Culture selon la technique de Löwenstein, le 2 janvier, reste négative. Deuxième culture, le 4 janvier (pendant l'apyrexie), est positive le 20 février 1932. Troisième hémoculture, le 9 janvier, reste négative.

N° 2. — M..., 25 ans, a déjà été hospitalisé à Tenon à 23 ans pour une crise de rhumatisme articulaire aigu. A 24 ans 1/2, il a eu une blennorragie. Il entre à Bichat avec une température à 38 degrés et une tuméfaction des chevilles et des genoux. Guérison rapide par le salicylate. Culture le 16 décembre 1931, négative après cinq semaines.

Ils ont eux aussi constaté l'absence de cultures macroscopiques. Et l'examen des frottis, pratiqués à partir des cultures microscopiques, a montré des bacilles peu abondants et très granuleux. Ils ont ensuite repiqué ces microcolonies, qui ont donné ainsi des cultures macroscopiques.

Ils terminent en ces termes leur publication : « Il va sans dire que ces recherches n'autorisent encore aucune conclusion sur l'étiologie du rhumatisme polyarticulaire aigu avant que les bacilles acido-résistants que nous avons isolés n'aient

été identifiés et que soient connues leurs propriétés biologiques. Si leur nature tuberculeuse se confirmait, il resterait à discuter si ces bacilles ont été les agents du rhumatisme polyarticulaire aigu ou s'il s'est agi d'une bacillémie occasionnelle dont nous avons cultivé les microbes « de sortie ».

Le problème se montre par conséquent très complexe. Mais il est curieux de constater que dans l'observation n° 4 l'hémoculture ait été positive seulement à la période apyrétique et après le traitement salicylé. Lœwenstein a en effet conseillé de prélever le sang au moment des poussées fébriles et articulaires et avant toute administration du salicylate de soude au malade; c'est du moins la raison qu'il donna pour expliquer les échecs complets de Frieda Abt dans les mêmes expériences; il semble ressortir de cet exemple que le salicylate n'est pas un obstacle à la culture du bacille de Koch.

Cependant, tandis que Lœwenstein découvre presque à coup sûr du bacille de Koch dans ses hémocultures, le nombre des résultats positifs obtenus par tous ceux qui sont étrangers à son laboratoire est encore très restreint, et trois auteurs seulement ont pu mettre en évidence des bacilles acido-résistants.

Mais nous ne sommes pas de son avis quand il affirme que, en dehors des affections tuberculeuses, le rhumatisme articulaire est la seule maladie aiguë où l'on puisse avoir une hémoculture positive.

Nous pouvons lui opposer des faits cliniques et expérimentaux récemment publiés :

POPPER : chez 39 malades différents atteints soit de grippe, soit de septicémies, et dans 4 cas de panarthrite syphilitique, a pu obtenir dans 9 cas des hémocultures positives.

TROISIER et DE SANCTIS MONALDI ont, de même, obtenu des résultats positifs par la méthode de Lœwenstein dans 3 cas, l'un d'endocardite infectieuse, le deuxième d'une pneumonie franche, le troisième d'une méningite cérébrospinale.

Premier cas. — Endocardite infectieuse greffée sur une vieille endocardite rhumatismale. Une hémoculture révéla un streptocoque non hémolytique. Le malade mourut d'infarctus cérébral septique et l'autopsie ne permit de déceler aucune lésion tuberculeuse pulmonaire ou autre. On ne put même pas repérer le point de départ de l'essaimage bacillaire hématique.

Deuxième cas. — Il s'agit d'une pneumonie franche aiguë à pneumocoque, terminée au sixième jour, la température tombant de 40°6 à 36°9, et cela en l'espace de trente-six heures.

Le malade guérit complètement et fut revu en parfaite santé quatre mois après. L'examen radiologique de son thorax ne révélait aucune lésion tuberculeuse.

Troisième cas. — Il s'agit d'une méningite cérébrospinale, où les examens sérologiques permirent de déceler un méningocoque type A. Après une rémission provoquée par la sérothérapie spécifique, une rechute emporta le malade.

Ces auteurs ne signalent pas la possibilité d'une complication de méningite tuberculeuse. Les examens complémentaires faits à partir des germes isolés dans les hémocultures obtenues ont permis d'identifier des bacilles du type humain.

Troisier et de Sanctis Monaldi concluent à la présence de bacilles de Koch « virus de sortie ». Ils confirment ainsi les travaux de Nicolle, qui a démontré que des processus spécifiques aigus peuvent mobiliser divers germes pathogènes. D'ailleurs, Troisier et de Sanctis Monaldi ont confirmé leurs conclusions par des faits expérimentaux. A des cobayes tuberculeux, ils ont injecté du bacille de Bang à fortes doses. L'hémoculture du bacille de Koch s'est aussitôt montrée plus fréquemment positive; par conséquent, « lorsqu'on produit deux infections successives et différentes, d'une manière générale la deuxième, si elle est assez virulente, détermine fréquemment une mobilisation des germes de la première ».

Ceci nous semble d'autant plus admissible qu'il est bien

prouvé que 98 p. 100 des êtres humains portent en eux du bacille de Koch.

Quant à la preuve complémentaire donnée par Amersbach et A. Lœwenstein, elle ne nous semble pas avoir grande valeur. Ces deux auteurs, nous l'avons déjà signalé, ont pu mettre en évidence le bacille de Koch à partir de cultures d'amygdales de rhumatisants. Nous ne croyons pas nous tromper en disant qu'il serait possible de renouveler les mêmes expériences avec les mêmes résultats, même chez des sujets sains, car le rôle des amygdales est d'arrêter les germes à l'entrée des voies respiratoires et du tube digestif.

Il faut donc de la prudence dans l'interprétation des faits expérimentaux, et la clinique doit reprendre ici ses droits, pour leur donner leur juste valeur. C'est au nom de cette clinique que M. le professeur Sergent s'est élevé dernièrement « contre les interprétations trop hâtives des résultats apportés sur le terrain bactériologique par la méthode de Lœwenstein ». Et nous ne saurions mieux terminer ce chapitre qu'en nous inspirant des conclusions générales de son article, paru le 1^{er} octobre 1932 dans le *Monde médical* :

« 1° La bacillémie tuberculeuse, bien et dûment constatée (c'est-à-dire avec contrôle expérimental de la virulence du bacille), n'implique point nécessairement la nature tuberculeuse de l'état morbide au cours duquel elle existe.

» 2° Elle ne peut exercer, d'ailleurs, aucune réaction ni influence nosogènes; tel est le cas pour les bacilles de Koch dits « de sortie » et pour les décharges bacillaires peu nombreuses et peu virulentes.

» 3° Elle peut accompagner tous les états tuberculeux en évolution.

» 4° Elle peut, lorsqu'elle apparaît au cours ou à l'occasion d'une maladie intercurrente quelconque, non tuberculeuse, annoncer, ou plutôt attester la réactivation de foyers tuberculeux latents et, part faite à la possibilité d'écrire « bacillé-
» mie de sortie, ou d'une décharge bacillaire éphémère, dé-

» clencher la production de localisations tuberculeuses nouvelles, dont la constatation clinique sera immédiate ou tardive ».

Et il termine en faisant une différence entre les « bacilles de sortie » de Nicolle, qui, « libérés d'un ancien foyer tuberculeux, passent dans la circulation vasculaire sanguine » et s'éliminent par les émonctoires naturels, et les « bacilles de fixation », qui, issus des mêmes anciens foyers tuberculeux, après être passés dans le sang circulant, s'échappent « par effraction de la canalisation vasculaire en un point quelconque de leur trajet ». Seule, par conséquent, l'évolution clinique de l'affection pourra déterminer le rôle réel joué par le bacille de Koch constaté dans le sang.

CHAPITRE III

MISE EN VALEUR DU MILIEU DE LÆWENSTEIN

Aux mains des expérimentateurs, autres que Læwenstein et ses assistants, cette méthode d'hémoculture n'a donc donné que de piètres résultats. Rares sont ceux qui ont quelquefois abouti, dans leurs expériences, à déceler ainsi le bacille de Koch. La méthode de Læwenstein ne s'est même pas montrée égale à celle de l'inoculation de sang au cobaye, ce qui rend son intérêt pratique très discutable. D'un autre côté, les considérations cliniques mettent en doute les théories pathogéniques du professeur viennois, dans le rhumatisme articulaire aigu principalement.

Mais tout autres sont les appréciations sur le milieu de culture que Læwenstein vient de nous donner. En quelques mois ce milieu a acquis tous les suffrages, et nous pouvons dire qu'à l'heure actuelle, on s'en sert à peu près couramment dans les laboratoires.

Nous avons déjà signalé que seul le milieu II est employé. C'est ainsi qu'en ensemençant plusieurs tubes de ce milieu avec une culture de bacilles de Koch sur pomme de terre glycerinée, nous avons obtenu une culture macroscopique en sept jours. Ce milieu s'est surtout montré intéressant pour la recherche du bacille de Koch dans des organes et liquides pathologiques, même lorsque l'examen direct a été négatif.

Le procédé de préparation de ces produits pathologiques dérive toujours des travaux de Læwenstein sur les moyens d'obtenir une culture pure de bacille de Koch. Comme nous

l'avons déjà signalé, il conseille de tuer tous les germes par l'acide sulfurique à 15 p. 100; seul le bacille de Koch résiste à une telle concentration d'acide sulfurique. Pour éliminer l'excès de cet acide, il faut centrifuger et laver une ou deux fois à l'eau distillée stérilisée. Comme nous allons le voir dans l'exposé des différents travaux faits à ce sujet, diverses modifications, minimales d'ailleurs, ont été apportées à ce procédé.

NANU, JONNESCO, STEFANESCO :

1° C. B... — Liquide pleural purulent. Culture positive au bout de neuf jours.

2° G... — Arthrite purulente du poignet. Liquide de ponction articulaire : résultat positif en dix jours.

3° R... — Péricardite séro-hémorragique, ponction du péricarde. Le liquide retiré a donné une culture au bout de neuf jours.

4° P. V... — Adénopathie inguinale ressemblant à la tuberculose. Cicatrices d'adénopathie cervicale guéries. Réaction de Frei positive, donc lymphogranulome inguinal. La culture du pus a été négative.

Avant d'ensemencer, ils ont lavé simplement les produits pathologiques à l'acide sulfurique à 15 p. 100.

A. SAENZ et A. MANSEAU :

Dans leurs recherches sur la constance des lésions osseuses dans la tuberculose de la poule, Saenz et Manseau ont directement cultivé sur milieu de Lœwenstein, après l'avoir prélevée à l'aide d'une pipette, la moelle contenue dans le canal médullaire du tarse.

Les moelles osseuses de 14 poules tuberculeuses ont été ainsi cultivées. A l'examen direct, préalablement pratiqué, 6 seulement de ces poules avaient des bacilles acido-résistants en abondance dans leur moelle osseuse.

Douze « myélocultures » ont fourni un résultat positif : dans 7 cas, entre le 9° et le 14° jour; dans 5 cas, entre le 17° et le 23° jour.

Dans 5 cas, le raclage et l'examen des microcolonies a permis de poser le diagnostic 24 heures à 72 heures avant l'apparition de colonies macroscopiques.

A. SAENZ et D. EISENDRATH :

Etude bactériologique de 17 cas suspects de tuberculose rénale du service du Professeur Legueu, à l'hôpital Necker.

Ils traitent les urines de la façon suivante :

1° Si l'infection urinaire est intense, ils centrifugent 20 à 50 cc. d'urine; au culot ainsi obtenu, ils ajoutent 10 cc. d'acide sulfurique à 10 ou 12 p. 100 et laissent en contact pendant 10 à 20 minutes. Ils centrifugent à nouveau, et lavent le culot.

2° Si l'infection est moins marquée, et si le sédiment présente un aspect muqueux, ils le traitent seulement par la soude à 4 ou 10 p. 100, avec un contact variant de 30 minutes à 4 heures.

Ils ont ensemencé les urines ainsi traitées soit sur le milieu de Lœwenstein, soit sur celui de Petraghiani modifié par Saenz qui y substitue l'asparagine à la peptone.

Six de ces urines ne contenaient pas de bacilles visibles à l'examen direct après homogénéisation. Par la suite, elles n'ont rien donné tant par la culture que par l'inoculation au cobaye.

Sur les 11 derniers échantillons d'urine, 4 ne contenaient pas de bacilles à l'examen direct.

Ces 11 cas ont donné des cultures positives, les microcolonies étant apparues du 9^e au 16^e jour et les macrocolonies du 12^e au 24^e jour. Jamais ils n'ont trouvé de bacilles aviaires ni de bacilles du smegma.

La culture est apparue huit jours avant l'adénite chez les 3 cobayes qui furent inoculés.

Dans un cas, la néphrectomie a confirmé le diagnostic de la nature tuberculeuse des lésions rénales.

FRIEDA ABT :

Dans 11 cas, il a cultivé un exsudat pleural qui a donné 9 réponses positives.

NICOLAÛ et BLUMENTHAL :

Dans 18 cas, ils ontensemencé les produits pathologiques provenant de diverses formes de tuberculoses cutanées, après avoir traité ces produits par l'acide sulfurique à 15 p. 100.

Cela a permis de cultiver le bacille de Koch 10 fois sur les 18 cas examinés dans les affections suivantes :

6 cultures positives sur 8 cas de lupus;

2 cultures positives sur 3 cas de tuberculose variqueuse;

2 cultures positives sur 7 cas de gommes tuberculeuses.

Comme type de bacille, ils isolèrent 8 fois le type humain et 2 fois le type aviaire.

Dans les 8 autres cas restés négatifs, les cultures furent cependant obtenues à partir des produits pathologiques provenant d'inoculations pratiquées dans ces cas.

NINI :

Ses travaux ont porté uniquement sur la recherche et la culture de l'ultra-virus tuberculeux. Ses expériences sont de deux ordres : il s'est d'abord attaché à déceler par culture l'ultra-virus dans les organes des cobayes inoculés avec des filtrats tuberculeux, puis il a fait de nombreuses recherches sur la culture de l'ultra-virus dans l'infection tuberculeuse héréditaire. Pour la préparation de ces produits pathologiques, à la culture, il s'inspire toujours du procédé à l'acide sulfurique de Löwenstein et il se sert de la technique suivante :

Les ganglions ou le morceau d'organe à partir duquel on veut cultiver l'ultra-virus tuberculeux, est broyé dans un mortier. On le met ensuite en suspension dans 5 à 6 cc. d'eau physiologique. On lui ajoute un volume d'acide sulfurique tel que la concentration en acide sulfurique soit de 2,5 à 3,5 p. 100. Après 10 à 20 minutes de contact, on centrifuge à

grande vitesse. On décante, on lave le culot et on l'ensemence sur deux ou trois tubes du milieu de Petraghani ou « mieux encore » de Lœwenstein.

1° Les filtrats de rate et de foie tuberculeux ont donné 6 microcultures positives à partir des animaux du 2° passage, 4 microcultures à partir des organes provenant directement de cobayes inoculés avec des filtrats.

Pour les cobayes directement inoculés avec le filtrat, les cultures se sont montrées positives entre 15 et 30 jours; pour les animaux de passage, entre 15 et jusqu'à 75 jours.

2° Dans l'infection tuberculeuse héréditaire, il a examiné 19 fœtus nés ou extraits artificiellement de mères tuberculeuses ou de mères infectées par des filtrats de bacilles de Koch.

L'ensemencement de différents organes (ganglions, foie, rate) a donné 9 microcultures dans un temps variant de 10 à 21 jours. Dans tous ces cas les bacilles étaient très abondants.

V. REYNES⁽¹⁾, préparateur au laboratoire de bactériologie.

Il a bien voulu nous communiquer les résultats qu'il a obtenus, grâce au milieu de Lœwenstein, dans la culture de produits pathologiques.

Pour leur préparation, il a appliqué la méthode, un peu modifiée, de Nini :

1° Si le produit à ensemercer est solide (ganglions, rate, foie, pièce de biopsie) ou simplement très épais (crachats), il sera mis à l'étuve à 37 degrés pendant 48 heures pour en favoriser l'autolyse par l'action des germes protéolytiques.

2° A 5 cc. de ces substances, on ajoute 5 cc. d'une solution à 5 p. 100 d'acide sulfurique. Puis on fait un mélange intime dans un mortier.

3° On laisse en contact pendant « 30 minutes ».

4° On centrifuge pendant un quart d'heure à grande vitesse,

(1) Nous remercions beaucoup notre camarade V. Reynes pour sa grande amabilité à nous fournir tous les renseignements demandés.

on décante et on lave à l'eau physiologique stérile, pour enlever l'excès d'acide sulfurique.

5° On ajoute au culot ainsi obtenu 2 à 3 cc. d'eau physiologique.

6° On ensemence sur le milieu de Lœwenstein en plan incliné.

Cette technique permet la préparation de la culture de n'importe quel liquide, de n'importe quel organe suspect.

Il a ensemencé ainsi le culot de quatre produits pathologiques; et il a obtenu des cultures macroscopiques, en l'espace de 10 à 25 jours.

1° *Liquide pleural* : A l'examen direct : lymphocytes et mononucléaires, présence de catharralis, pas de bacilles de Koch.

On ne trouve pas non plus de bacilles de Koch après centrifugation.

Seul l'ensemencement sur Lœwenstein a pu fournir des colonies macroscopiques de bacilles de Koch.

2° *Mastœdite* : Examen d'un fragment d'os. Après broyage et centrifugation, on n'a pu mettre en évidence ni bacille de Koch ni autres germes. L'ensemencement sur Lœwenstein a donné une culture macroscopique de bacilles de Koch.

3° *Liquide de ponction* d'une collection purulente située autour de la hanche.

Examen de M. le Docteur Moureau : « liquide purulent grumeleux, légèrement hématique.

» Cytologie : lymphocytes 32 p. 100, mono 58 p. 100, poly 10 p. 100.

» On ne trouve du bacille de Koch ni directement, ni après centrifugation et homogénéisation. Pas d'autres germes non plus. »

L'ensemencement sur le milieu de Lœwenstein a révélé de nombreux bacilles de Koch.

4° *Crachats suspects* :

Pas de bacilles de Koch à l'examen direct.

Après le traitement ci-dessus indiqué, le culot obtenu a été

ensemencé : 1° sur le milieu de Petragnani : résultat négatif; 2° sur le milieu de Lœwenstein, la culture a donné 5 colonies.

V. Reynes a en outre remarqué que le milieu de Lœwenstein sans colorant (vert Malachite ou rouge Congo) donne des résultats aussi satisfaisants.

M. le Professeur agrégé E. AUBERTIN et M. V. REYNES.

Ils ont bien voulu nous faire part de leurs recherches sur le virus filtrant tuberculeux.

A cet effet, ils ont cultivé, toujours par la même méthode et sur le milieu de Lœwenstein, 120 ganglions issus de cobayes traités par des filtrats tuberculeux.

Entre autres résultats, ils ont obtenu 3 cultures macroscopiques en 20 à 25 jours :

1° Un cobaye, inoculé depuis deux mois avec 10 cc. de filtrat de culture de bacille de Koch sur milieu de Sauton, a présenté un ganglion dans l'aîne. Après extirpation, ce ganglion, traité et ensemencé, a donné en 20 jours une culture repiquable.

2° Un cobaye inoculé avec la rate du précédent, a présenté un caséum au point d'inoculation. L'ensemencement de ce caséum a donné le même résultat dans les mêmes délais.

3° Un cobaye a été inoculé avec 1 cc. de filtrat d'une culture de bacille de Koch, dans les ganglions cervicaux et avec 4 cc. du même filtrat sous la peau du flanc. Sacrifié trois mois après, il présentait une grosse adénopathie trachéobronchique. L'ensemencement de ces ganglions a donné une culture repiquable en 20-25 jours.

Par conséquent, M. le Professeur agrégé E. Aubertin et M. V. Reynes ont pu, grâce au traitement préalable et grâce au milieu de Lœwenstein, isoler deux souches (cas I et III) de virus filtrants tuberculeux.

Les mêmes expériences, répétées chez de nombreux cobayes de passage, ont donné les mêmes résultats dans les mêmes délais.

En outre, ils n'ont constaté qu'une seule fois une culture microscopique non repiquable.

*
* *

Des auteurs se sont appliqués, d'après la publication de Lœwenstein, à modifier certains milieux à l'œuf. C'est ainsi que Saenz a modifié le milieu primitif de Petragnani en substituant l'asparagine à la peptone. Ce milieu, d'après lui, est égal à celui de Lœwenstein. Mais nous avons trouvé quelques résultats à l'avantage du milieu de Lœwenstein. M. V. Reynes a obtenu, dans un cas, un résultat positif grâce au milieu de Lœwenstein, alors que le même ensemencement fait sur celui de Petragnani modifié n'a rien donné. Nini, dans ses recherches sur le virus filtrant, se sert « du milieu de Petragnani modifié ou mieux encore de celui de Lœwenstein ». Sigon, dans un tableau comparatif dont nous n'avons pas les détails, classe premier le milieu de Lœwenstein, vient ensuite le milieu de Petragnani. Hauduroy, enfin, préfère lui aussi le milieu de Lœwenstein, mais il n'en fournit pas les raisons.

CONCLUSIONS

I. — *Sur la méthode d'hémoculture de Lœwenstein :*

1° La méthode de Lœwenstein est un procédé d'hémoculture du bacille de Koch nouveau, original. Elle mérite de retenir l'attention.

2° Cependant cette méthode est loin d'avoir fait ses preuves. Personne, jusqu'à nos jours, n'a pu confirmer les statistiques éclatantes de Lœwenstein et de ses collaborateurs.

3° A moins de modifications, elle ne pourra pas entrer dans la pratique courante du laboratoire. Nous avons, en effet, dit que chaque préparation de sang demande au moins trois à quatre heures de travail appliqué. L'inoculation au cobaye, plus simple, donnant des résultats plus sûrs, reste, jusqu'à nouvel ordre, le moyen de choix pour le diagnostic de la tuberculose à partir du sang.

4° Le petit nombre et l'imprécision des résultats obtenus ne permettent pas de trancher les discussions relatives à la bacillémie tuberculeuse.

5° Elles permettent encore moins d'envisager la possibilité d'une étiologie tuberculeuse du rhumatisme articulaire aigu. Les résultats obtenus par Lœwenstein et ses collaborateurs, non confirmés d'ailleurs par la majorité des auteurs, ne peuvent trouver une explication suffisante qu'en admettant la réalité de la conception qui considère le bacille de Koch comme un germe « de sortie », libéré de l'organisme sous l'influence de l'infection rhumatismale aiguë.

II. — *Sur le milieu de culture de Lœwenstein :*

1° Le milieu de Lœwenstein est, sans doute, le meilleur milieu qui existe actuellement pour la culture du bacille de Koch. Il faut cependant en rapprocher le milieu de Petraghani modifié.

2° Ce milieu est surtout intéressant pour la recherche du bacille de Koch à partir d'organes ou d'exsudats pathologiques, dont l'examen direct n'a pas permis de déceler le bacille de Koch. Les résultats sont acquis, en général, huit à dix jours avant l'apparition d'adénite, chez les cobayes inoculés avec les mêmes produits.

Ces recherches méritent d'être poursuivies, car « il y a là, dit Léon Bernard, un problème d'intérêt pratique considérable pour tous les établissements d'assistance, les milieux de culture étant beaucoup moins coûteux que l'achat et surtout l'entretien des cobayes. »

3° Le milieu de Lœwenstein a permis d'obtenir des cultures macroscopiques de l'ultra-virus tuberculeux, qui jusqu'ici ne se cultivait que très difficilement !

VU : *Le Doyen,*
C. SIGALAS.

VU, BON A IMPRIMER :
Le Président,
P. MAURIAC.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 10 novembre 1932.
Le Recteur de l'Académie,
A. TERRACHER.

BIBLIOGRAPHIE

- ABT (F.). — La recherche des bacilles de la tuberculose dans le sang par cultures. *Schweiss. Mediz. Wochens.*, t. LXI, n° 45, 7 nov. 1931.
- AMERSBACH (K.) et LÖWENSTEIN (A. et E.). — Apparition latente de bacilles tuberculeux dans le tissu amygdalien au cours du rhumatisme articulaire aigu récidivant. *Munch. Mediz. Wochens.*, t. LXXVIII, n° 26, 26 juin 1931.
- BINGOLD et SPIER. — Contribution à l'étude de la culture directe du bacille tuberculeux dans le sang. *Munch Mediz. Wochens.*, t. LXXVIII, n° 45, 6 nov. 1931.
- CALMETTE. — L'infection tuberculeuse chez l'homme et les animaux, p. 203, édit. 1928, Masson, Paris.
- CAUSSIMON. — La recherche du bacille tuberculeux dans le sang circulant des tuberculeux pulmonaires. *Presse médicale*, n° 24, 1931.
- COSTE (F.). — A propos du procès-verbal. *Bull. et mém. de la Soc de méd. des hôp.*, n° 16, p. 641, 6 mai 1932.
- COSTE (F.) et SAENZ. — *Soc. de méd. des hôpitaux de Paris*, 4 déc. 1931.
- DEBRÉ. — A propos du procès-verbal. *Bull. et mém. de la Soc. de méd. des hôp.*, n° 16, p. 640, 6 mai 1932.
- DELILLE (A.), LESTOQUOY (Ch.) et MANCEAU (Y.). — Tuberculose pulmonaire du nourrisson simulant une broncho-pneumonie. Bacillémie constatée par la méthode de Löwenstein. *Bull. et mém. de la Soc. de méd. des hôp.*, 6 mai 1932, n° 16, p. 637.

- DOMINGO. — Sur la méthode de Lœwenstein dans la bacillémie tuberculeuse. *C. R. de la Soc. de biol.*, 7 nov. 1931.
- EDERLE et KRIECH. — Hémoculture du bacille tuberculeux par la méthode de Lœwenstein. *Deutsche Mediz. Wochens.*, t. LVIII, 1932, p. 7.
- FISCHER. — *Zeitsch. fuer Tuberk.*, t. LVIII, 1930, p. 331.
- FISCHER et URGOITI. — *Beitr. Klin. Tuberk.*, t. LXXVI, p. 484.
- GIANNETTI. — *Boll. Istr. Scroter. Milan*, t. X, 1931, p. 446.
- GRIMM. — La culture du bacille tuberculeux dans le sang et les tissus des malades atteints de tuberculose cutanée. *Dermat. Wochens.*, t. XCIV, n° 17, 23 avril 1932.
- HUTTIG. — *Zeitschr. fur Tuberk.*, t. LXII, p. 35.
- IZARD et THIRY. — Recherches sur la bacillémie tuberculeuse. *Tou-louse médical*, t. XXXII, 15 déc. 1931.
- JERUSALEM et URGOITI. — *Med. Klinis. Woch.*, 1931, p. 769.
- JONOFSON. — *Zeitschr. f. Tuberk.*, t. LXI, 1931, p. 35.
- KALLOS. — *Munch. Med. Woch.*, 1931, p. 1901.
- KADISCH. — *Med. Woch.*, 1932, p. 111.
- KOCH. — Présence du bacille tuberculeux dans le sang au cours des tuberculoses cutanées ? *Deutsch. Mediz. Woch.*
- KREN et LOEWENSTEIN. — Hämatogen Entstehung gervisser Tuberculosen der Haut. *Kliniz. Wochens.*, n° 21, 23 mai 1931, p. 974.
- Zur Pathogenese der Häutuberculose und Tuberculide. *Wiener Klinische Wochens.*, n° 13, 1931.
- LOEWENSTEIN. — Das Vorkommen der Tuberkelbacillemie bei verschiedenen Krankheiten. *Munch. Med. Wochens.*, 1930, n° 39, p. 1662.
- Die Klinische Bedeutung der Tuberkelbacillemie. *Munch. Med. Wochens.*, 1930, n° 39, p. 1662.
- Die Methodik der Reinkultur von Tuberkelbacillen. *Deutsche Mediz. Woch.*, 1930, n° 24; *Zentralblatt fur Bakteriologie*, t. 120, 23 févr. 1931, p. 127-129; *Klinische Woch.*, 23 mai 1931, p. 976.
- Tuberkelbacillemie bei Erkrankung des Zentralnervensystems. *Munch. Med. Woch.*, n° 26, 26 juin 1931, p. 108.

- LICHTENSTERN. — Bazillamie bei Urogenitaltuberkulose. *Munch. Med. Woch.*, 1931, p. 471.
- MACH (René-S.). — *Revue médicale de la Suisse romande*, n° 13, 25 nov. 1931, p. 787.
- MACH (René-S.) et MACH (Evelyn). — Hémoculture de bacilles acido-résistants par la méthode de Lœwenstein. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. CIX, 5 mars 1932, p. 722.
- MANTEUFFEL (P.) et KOTTMANN. — Recherches sur la valeur des cultures de sang pour le diagnostic de la tuberculose expérimentale du lapin. *Zeitschr. f. Immun.*, t. LXXIV, 24 mars 1932, p. 25.
- MEERSSEMAN (F.), MAROT et LUMARET. — Un cas de primo-infection tuberculeuse de l'adulte avec hémoculture positive par la méthode de Lœwenstein. *Soc. méd. des hôpitaux de Lyon*, 28 juin 1932.
- MOOS SCHWABACHER. — Blood culture in tuberculosis. *Lancet*, 23 mai 1932, p. 1130.
- NANU (I.), JONNESCO (D.) et STEFANESCO (C.). — Contribution au diagnostic de la bacillémie tuberculeuse par l'hémoculture selon la méthode de Lœwenstein. *Presse médicale*, n° 98, 9 déc. 1931, p. 1805.
- NICOLAU et BLUMENTHAL. — Recherches bactériologiques et expérimentales sur la tuberculose cutanée. *Ann. de dermatol.*, t. III, n° 6, juin 1932.
- NINI. — La culture indirecte pour déceler l'ultra-virus tuberculeux. *C. R. de la Soc. de biol.*, séance du 21 mai 1932, t. CX, n° 18, p. 169.
- Culture de l'ultravirus dans l'infection tuberculeuse héréditaire. *C. R. de la Soc. de biol.*, séance du 28 mai 1932, t. CX, n° 19, p. 257.
- PARAF (J.) et ABAZA (A.). — La bacillémie tuberculeuse et la méthode de Lœwenstein. *Rev. critique de path. et de thérap.*, t. III, n° 6, sept. 1932, p. 461.
- POLLAK. — *Med. Klinisch. Wochens.*, 1931, p. 1146.
- POPPER. — *Deutsche Mediz. Wochens.*, 1932, p. 89.

REITTER et LÖEWENSTEIN. — Akuter Gelenkrheumatismus und Tuberkelbacillämie. *Munch. Med. Woch.*, 1930, p. 1552; *Munch. Med. Wochens.*, 1931, p. 472; *Wiener Klinische Wochens.*, 1930, n° 19; *Wiener Klinische Wochens.*, 1931, p. 1357.

RUSSEW et LÖEWENSTEIN (E.). — *Wien. Klin. Wochens.*, 1930, p. 10.

SAENZ (A.). — Valeur diagnostique de l'hémoculture chez les tuberculeux.

— Sur un bacille acido-résistant isolé du sang d'un malade par hémoculture. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. CVII, 18 juill. 1931, p. 1455 et 1457.

— Recherches sur la bacillémie tuberculeuse par la méthode de Lœwenstein. *Presse médicale*, n° 59, 23 juill. 1932, p. 1160.

SAENZ (A.) et MANSEAU (A.). — Importance de la culture de la moelle osseuse ou myéloculture pour le diagnostic de la tuberculose aviaire. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. CIX, 9 avril 1932, p. 1115.

SAENZ (A.) et EISENDRATH (D.). — La microculture et son importance dans le diagnostic précoce de la tuberculose rénale par l'ensemencement des urines. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. CIX, 23 avril 1932, p. 1260.

SANCTIS MONALDI (T. DE). — Influence d'une infection aiguë surajoutée sur la bacillémie tuberculeuse. *C. R. de la Soc. de biol.*, t. CX, 4 juin 1932, p. 378.

SERGENT (E.). — La bacillémie tuberculeuse et les bacilles de Koch de « sortie » vus par un clinicien. *Le Monde médical*, n° 816, 1^{er} oct. 1932, p. 859.

SIGON. — La présence du bacille de Koch dans la polyarthrite rhumatismale. *Minerva Medica*, t. II, p. 44, 3 nov. 1931.

TROISIER (J.) et SANCTIS MONALDI (T. DE). — Le bacille de Koch virus de sortie au cours de maladies aiguës non tuberculeuses. *C. R. de la Soc. de biol.*, 3 mai 1932, n° 37.

URGOITI (A.). — Contribution à l'étude de la bacillémie tubercu-

leuse, par l'hémoculture, dans les tuberculoses ostéo-articulaires. *Arch. de Medicina, Cirugia y Especialidades*, t. XII, n° 43, 24 oct. 1931.

WEATHERAIL (C.) et CUMING (J. N.). — Tubercle bacilli in the blood stream in human and animal tuberculosis. *Lancet*, t. CCCXXII, 7 mai 1932, p. 980.

